

УДК 576.8, 581.13

DOI: 10.20535/1810-0546.2016.3.61352

Н.Б. Голуб, Д.І. Драпой

Національний технічний університет України “КПІ”, Київ, Україна

## ПРОДУКУВАННЯ ВОДНЮ ПРИ АНАЕРОБНІЙ ФЕРМЕНТАЦІЇ ВІДХОДІВ КУКУРУДЗИ І СОНЯШНИКУ

**Background.** Obtaining hydrogen – an alternative energy carrier – from renewable resources (agricultural waste).

**Objective.** Establish rational parameters for alkaline pretreatment of sunflower and corn waste by an association of microorganisms to increase the speed of hydrogen production.

**Methods.** We used gas chromatography method to establish the qualitative and quantitative biogas content that was produced during the process of fermentation. We used light microscopy methods to determine lysis zones and to monitor species content of microorganisms association.

**Results.** We've investigated the effect of 5, 10, 20, 30, 40 % alkali concentration during pretreatment of corn and sunflower waste on hydrogen yield in the process of their anaerobic fermentation for 1, 2 and 3 hours. The highest hydrogen yield has been achieved by pretreatment with 20 % NaOH solution for 3 hours. We've studied the hydrogen yield during fermentation process with inoculum to culture medium ratio as: 1:6; 1:3; 1:2; 2:3; 1:1 by volume. The content of microorganisms in inoculum was 0.0011 g/cm<sup>3</sup> and the dry residue of culture medium was 0.0267 g/cm<sup>3</sup>. It's been shown that hydrogen yield in the gas phase reaches 87.5 ± 4.2 % for the association of microorganisms enriched by *Clostridium* and *Bacillus* genus with the ratio of inoculum to culture medium 2:3. Fermentation process has been studied in two temperature modes: 22 ± 2 and 35 ± 2 °C. It's been determined that temperature increase from 22 ± 2 to 35 ± 2 °C increases hydrogen yield by 2 times. It's been shown that the highest hydrogen yield is observed by holding enzymatic process at pH level near 6–6.5 pH decrease switches metabolic pathways from acetate fermentation type to the formation of butyrate, thus reducing hydrogen yield.

**Conclusions.** The most effective method of substrate pretreatment for the process of obtaining hydrogen by anaerobic fermentation of corn and sunflower waste (1:1) was the pretreatment with 20 % NaOH solution for 3 hours. The highest hydrogen yield has been observed in case of inoculum to culture medium ratio set at 2:3 with pH 6–6.5 and the temperature at 35 ± 2 °C.

**Keywords:** anaerobic fermentation; hydrogen; waste; microorganisms; inoculum; substrate; cellulosic materials.

### Вступ

Наразі гостро стоїть проблема пошуку альтернативних джерел енергії у зв'язку із забрудненням навколишнього середовища відходами виробництва та споживання традиційної енергетичної сировини. Крім того, людство зіткнулося з проблемою утилізації відходів. Відновлюваною сировиною для отримання альтернативного енергоносія – водню – можуть слугувати відходи сільськогосподарської промисловості, які містять 22–45 % целюлози, що асоційована з геміцелюлозою (11–44 %) та лігніном (11–28 %) [1]. Мікробіологічна деструкція лігніну проходить дуже повільно, при цьому він затрудняє доступ мікроорганізмів до волокон целюлози. Тому для ефективного проходження процесу ферментації необхідною є попередня обробка відходів.

Є декілька способів попередньої обробки лігніноцелюлозної біомаси, основні з яких: термічна (парою), лужна, кислотна та змішана [2]. У працях [3–8] показано, що обробка лугом призводить до підвищеного виходу водню порівняно з іншими видами попередньої обробки

целюлозовмісної сировини. Так, при попередній обробці 200 г сухої рослинної біомаси (слонина трава) лугом, кислотою, парою, розчином аміаку та пероксидом водню одержано найбільшу кількість як редуруючих цукрів (34,4 г), так і водню (83,5 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>/г сухої біомаси) за використання лужної обробки. Попередня обробка слонини трави 2 %-ним розчином NaOH протягом 1 год у співвідношенні субстрату до розчину лугу 1:20 за масою дала змогу видалити 88 % лігніну [3]. Показано [4], що швидкість гідролізу зростає зі збільшенням концентрації NaOH в розчині та залежить від якісного складу субстрату. Вихід біогазу при анаеробному зброджуванні стебел спаржі після обробки 6 %-ним розчином NaOH становив 242,3 см<sup>3</sup>/г незмоленого субстрату, що на 38,4 % вище, ніж при обробці 1 %-ним розчином NaOH. При цьому ступінь розкладу субстрату збільшився з 40,1 до 55,4 % [4]. При обробці лугом відходів цукрової тростини з подальшим нагріванням до 100 °C протягом 30 хв вихід водню становив 1,2 моль H<sub>2</sub>/г субстрату [6]. Попередня обробка 2 %-ним розчином NaOH протягом 90 хв при 100 °C призвела до зни-

ження вмісту лігніну в біомасі *Eucalyptus urophylla* на 35 % [7].

При лужній обробці руйнується структура лігнінового каркасу рослинної біомаси з подальшим видаленням значної кількості лігніну разом із використаним розчином лугу. При обробці сировини кислотою або парою відбувається руйнування структури, але майже не видаляється лігнін, що уповільнює швидкість процесу ферментації. При цьому найбільше зростання доступності целюлози відбувається протягом перших 10 хв обробки лігніноцелюлозної біомаси [5]. Це пояснюється здатністю лугу до вибіркового видалення лігніну без руйнації вуглеводів, при цьому підвищуються пористість і площа поверхні субстрату та, відповідно, ефективність ферментативного гідролізу [8]. Тому встановлення раціональних параметрів попередньої обробки целюлозовмісної сировини лугом є актуальною проблемою.

Одним із важливих параметрів біотехнологічного процесу отримання водню, що впливає на процес ферментації, є співвідношення субстрату та інокуляту. У роботі [9] досліджено вихід біогазу при анаеробному зброджуванні харчових відходів за співвідношення субстрату до інокуляту: 0,33:1; 0,5:1; 1:1; 2:1; 4:1 г/г. Найбільший вихід біогазу отримали за співвідношення 0,33:1, в інших варіантах вихід був нижчим на 38–73 % [9]. Актуальним є визначення співвідношення субстрату й інокуляту за умови попередньої обробки сировини лугом.

### Постановка задачі

Мета роботи — встановити раціональні параметри попередньої обробки лугом відходів соняшнику та кукурудзи для підвищення швидкості продукування водню асоціацією мікроорганізмів. Для досягнення поставленої мети необхідно розв'язати такі задачі: встановити вплив концентрації NaOH і часу обробки на вихід водню в анаеробному ферментативному процесі; визначити раціональне співвідношення інокуляту до субстрату; дослідити вплив рН і температурного режиму ферментації на вихід водню.

### Матеріали і методи

Як субстрат використовували суміш відходів кукурудзи та соняшнику у співвідношенні 1:1 за сухою масою. Для підвищення швидкості процесу утворення водню і доступності пожив-

них речовин відходи попередньо подрібнювали до розмірів 3–5 мм. Зважування субстрату проводили за допомогою технічної ваги Т–200 (РФ).

Для визначення раціональної концентрації лугу для ефективної попередньої обробки сировини використовували 5, 10, 20, 30, 40 %-ні розчини NaOH. Час обробки становив 1, 2, 3 год. Перед завантаженням реактора субстрат після обробки промивали дистильованою водою до нейтрального значення рН.

Як інокулят використовували природну асоціацію мікроорганізмів — деструкторів целюлози та продуцентів молекулярного водню, виділену з ґрунту й адаптовану до ферментації відходів соняшнику та кукурудзи.

Культивування здійснювали у флаконах об'ємом 300 см<sup>3</sup>, заповненими на 70 % сумішшю інокуляту, води та відповідним субстратом (4 г), які герметично закривали гумовою пробкою та гвинтовим затискачем. Співвідношення інокуляту і культурального середовища за об'ємом становило 1:6; 1:3; 1:2; 2:3; 1:1. Вміст мікроорганізмів у суспензії інокуляту — 0,0011 г/см<sup>3</sup>. Процес проводили в анаеробних умовах за температур  $22 \pm 2$  і  $35 \pm 2$  °С у термостаті сухоповітряному ТС–80М (Україна), в періодичному режимі. Ступінь анаеробності середовища відстежували за зміною забарвлення розчину резазурину марки х.ч. (0,15 г/дм<sup>3</sup>), який додавали в кількості 1 см<sup>3</sup>/дм<sup>3</sup>. рН розчину вимірювали за допомогою іонометра ИМИ-160 (РФ). Процес розкладання целюлози за участю мікроорганізмів спостерігали візуально за допомогою світлового мікроскопа XSP-139TP (Ulab, Китай) зі збільшенням  $\times 1000$ .

Склад газу, що утворювався в процесі ферментації, визначали методом газової хроматографії за допомогою газового хроматографа ЛХМ-5МД (РФ) за стандартною методикою [10]. Коефіцієнти для перерахунку:  $K(\text{H}_2) = 0,00142$ ,  $K(\text{N}_2) = 0,0065$ ,  $K(\text{O}_2) = 0,005$ ,  $K(\text{CO}_2) = 0,029$ ,  $K(\text{CH}_4) = 0,0026$ .

### Результати і їх обговорення

Для з'ясування необхідної концентрації лугу, що дає змогу здійснити процес делігніфікації біомаси і підвищити вихід водню, попередню обробку розчином NaOH різної концентрації здійснювали за кімнатної температури протягом 1 год. Порівняльну характеристику газової фази, що продукується в процесі ферментації, за використання різної концентрації розчину лугу наведено в таблиці.

**Таблиця.** Зміна складу газової суміші в процесі ферментації відходів соняшнику і кукурудзи

Доба	Речовина	5 % NaOH	10 % NaOH	20 % NaOH	30 % NaOH	40 % NaOH
1	H <sub>2</sub> , %	0	1,8 ± 0,09	1,5 ± 0,08	1,2 ± 0,06	1,5 ± 0,08
	N <sub>2</sub> , %	68 ± 3,4	65 ± 3,25	69,3 ± 3,47	68,9 ± 3,45	67 ± 3,35
	O <sub>2</sub> , %	1,35 ± 0,68	1,4 ± 0,07	1,7 ± 0,09	7,7 ± 0,39	7,8 ± 0,39
2	H <sub>2</sub> , %	3,5 ± 0,18	12,5 ± 0,63	14,6 ± 0,73	16,9 ± 0,85	15,3 ± 0,77
	N <sub>2</sub> , %	61 ± 3,05	62 ± 3,1	63,2 ± 3,16	53,7 ± 2,69	51,6 ± 2,58
	O <sub>2</sub> , %	0	0	0	0	0
3	H <sub>2</sub> , %	11,2 ± 0,56	17,7 ± 0,89	27 ± 1,35	30,3 ± 1,52	28,7 ± 1,44
	N <sub>2</sub> , %	56 ± 2,8	57,3 ± 2,87	61 ± 3,05	42 ± 2,1	45,3 ± 2,27
	O <sub>2</sub> , %	0	0	0	0	0
4	H <sub>2</sub> , %	9,2 ± 0,46	8,2 ± 0,41	4,3 ± 0,21	12,2 ± 0,61	7,1 ± 0,36
	N <sub>2</sub> , %	51,5 ± 2,58	57,8 ± 2,89	60,8 ± 3,04	53 ± 2,65	57,2 ± 2,86
	O <sub>2</sub> , %	0	0	0	0	0

У 1-шу добу відбувається закріплення мікроорганізмів на волокнах целюлози, починають виділятися гідролітичні ферменти, що розкладають целюлозу. Під мікроскопом у місцях адсорбції мікроорганізмів на волокнах целюлози чітко помітні зони лізису. В газовій фазі кількість водню незначна, а основну частину становить азот із повітря. На 2-гу добу спостерігається зниження рН розчину з 7,5 до 6,4 ± 0,1 за рахунок виділення органічних кислот у процесі бродіння. Кисень у процесі ферментації використовується аеробними, факультативно аеробними або факультативно анаеробними мікроорганізмами на процеси окиснення. Підвищується продукування водню. За умов невідведення газової фази із зони реактора максимальний вихід водню спостерігається на 3-тій добу. Відомо [11, 12], що підвищення парціального тиску водню призводить до інгібування процесу його утворення, змінює метаболічні шляхи мікроорганізмів у бік утворення інших продуктів (етанолу, лактату, аланіну тощо) та підвищує вірогідність його використання консументами, які містяться в мікробній асоціації. Оскільки в процесі метаболізму мікроорганізмів також утворюється CO<sub>2</sub>, то стає можливим перебіг реакції утворення оцтової кислоти:



унаслідок якої відбувається поглинання водню з газової фази. Цим можна пояснити зменшення його концентрації на 4-ту добу ферментації.

Таким чином, концентрація луку при попередній обробці целюлозовмісної сировини впливає на процес ферментації і вихід водню. За використання 5 та 10 %-них концентрацій розчину NaOH вихід водню у 1,5–2 рази нижчий, ніж при використанні розчинів з більшою

концентрацією. При цьому підвищення концентрації понад 20 % майже не впливає на вихід водню, тому в технологічному процесі пропонується використовувати обробку 20 %-ним розчином NaOH.

Для з'ясування раціонального часу обробки субстрату досліджували вихід водню після попередньої обробки 20 %-ним розчином NaOH протягом 1–3 год. Зміна виходу водню в процесі ферментації показана на рис. 1. Максимальний вихід водню спостерігається на 3-тій добу культивування і становить 27 ± 1,35; 32,6 ± 1,63 та 47 ± 2,35 % при попередній обробці 1, 2 та 3 год відповідно. Підвищення виходу водню майже на 75 % при попередній обробці протягом 3 год порівняно з 1 год дає змогу вважати, що раціональний час обробки субстрату лугом – 3 год.

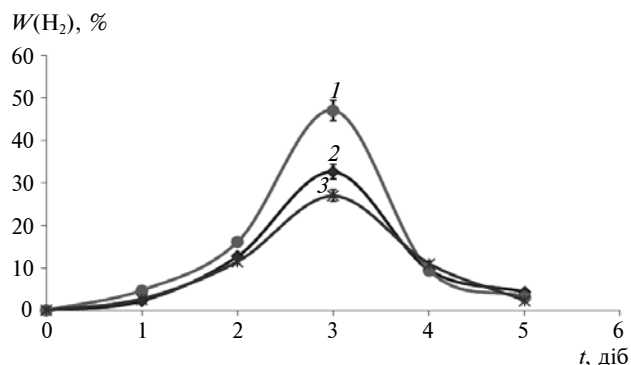


Рис. 1. Зміна виходу водню ( $W$ ) від часу ( $t$ ) культивування за різної тривалості попередньої обробки субстрату розчином луку: 1 – 3 год, 2 – 2 год, 3 – 1 год

Одним із важливих параметрів, що впливають на процес ферментації та вихід водню, є рН середовища. Цей параметр є змінним в часі і впливає на життєдіяльність мікроорганізмів, їх метаболізм та ферментативну активність. У про-

цесі ферментації відбувалося зниження значення рН від  $7,5 \pm 0,1$  до  $5,5 \pm 0,1$ , що супроводжувалося інгібуванням процесу утворення водню (рис. 2). Зміна рН пояснюється тим, що під час процесу ферментації целюлози одночасно з виробництвом  $H_2$  утворюються низькомолекулярні органічні кислоти. Зміна концентрації іонів водню призводить до зміни метаболізму в бік утворення нейтральних продуктів, і відповідно, знижується вихід водню. рН впливає на активність залізовмісних гідрогеназних ферментів, тому при зниженні рН до 5,5–5 змінюється конформація ферментного комплексу, і він втрачає свою активність [13]. Максимальний вихід водню спостерігається на 3-тю добу, що відповідає значенню рН  $6,4 \pm 0,1$ .

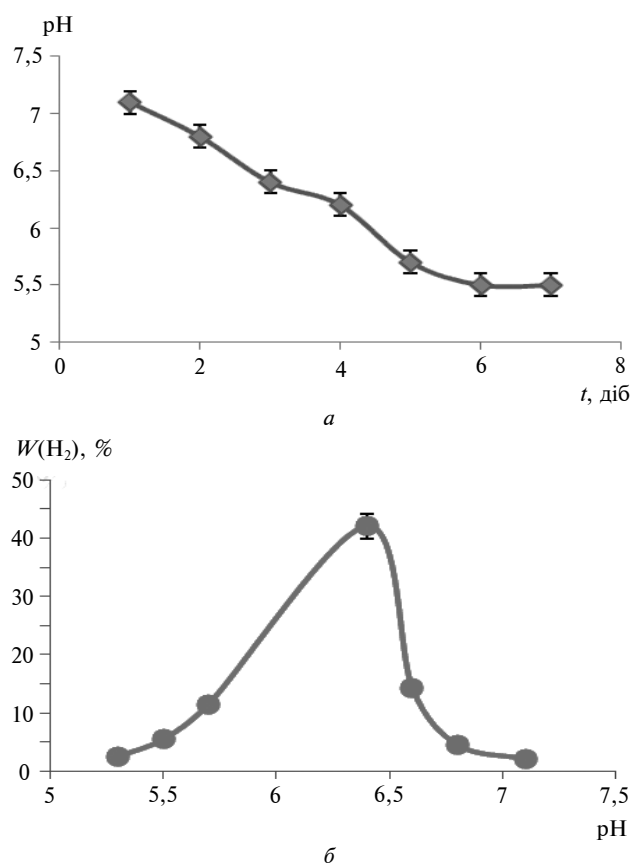


Рис. 2. Зміна рН у процесі культивування (а) та залежність виходу водню від рН середовища (попередня обробка сировини 3 год 20 %-ним розчином NaOH) (б)

Крім того, метаболічні шляхи також залежать від значення рН. Найбільше продукування водню (4 молі на моль глюкози) відбувається за ацетатним шляхом бродіння. За низьких значень рН переважно утворюється бутират, у слабколужному середовищі — пропіонат, що зменшує вихід водню за рахунок його ви-

користання в процесі метаболізму з утворенням більш відновлених сполук [14–16]. За використання суміші відходів кукурудзи та соняшнику для підвищення виходу водню треба підтримувати значення рН процесу в межах 6–6,5.

Ще одним важливим параметром, який впливає на процес ферментації, є температура. При термофільному режимі підвищується вихід водню і зменшується вплив сторонніх мікроорганізмів. Проте головним недоліком є підвищення енерговитрат і, відповідно, собівартості водню. Ферментацію целюлозовмісного субстрату, який попередньо обробляли 20 %-ним лугом, проводили в двох температурних режимах:  $22 \pm 2$  і  $35 \pm 2$  °C, інокулят був збагачений мікроорганізмами роду *Clostridium*. З графіків (рис. 3) видно, що проведення процесу за температури  $35 \pm 2$  °C дає змогу отримати вдвічі більший вихід водню за вдвічі менший час. З підвищенням температури збільшується швидкість процесу ферментації, що призводить до підвищення парціального тиску водню і зміни метаболічних шляхів, унаслідок чого знижується вихід водню на 3-тю добу. За температури  $22 \pm 2$  °C ферментативний процес уповільнюється, і частина водню, що утворюється, може використовуватись на інші потреби клітин мікроорганізмів, що призводить до зсуву часу максимального виходу та зниження його виходу.

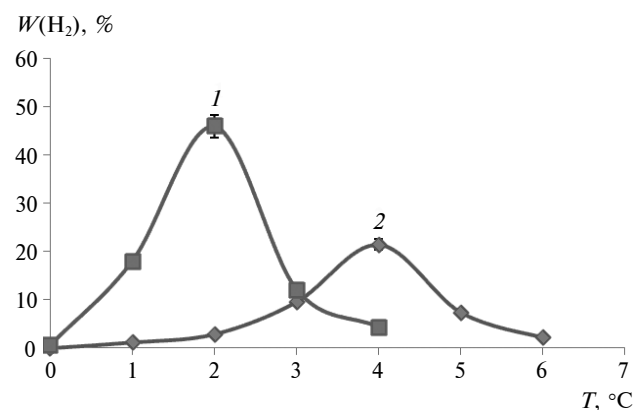


Рис. 3. Залежність виходу водню в процесі ферментації від температурного режиму культивування: 1 —  $35 \pm 2$  °C, 2 —  $22 \pm 2$  °C

На процес ферментації також впливає співвідношення інокуляту та субстрату. Для дослідження використовували природну адаптовану асоціацію мікроорганізмів з ґрунту (100 см<sup>3</sup> інокуляту), яка була збагачена мікроорганізмами родів *Clostridium* (20 см<sup>3</sup> інокуляту) та *Bacillus* (50 см<sup>3</sup> інокуляту). Кількість мікроорганізмів за сухою речовиною в 1 см<sup>3</sup> інокуляту — 0,0011 г.

Для дослідження використовували співвідношення за об'ємом інокуляту до культурального середовища ( $0,0267 \text{ г у } 1 \text{ см}^3$ ) 1:6; 1:3; 1:2; 2:3; 1:1. При співвідношенні інокуляту до субстрату 1:6; 1:3; 1:2 вихід водню у 2–5 разів нижчий, ніж за використання співвідношення 2:3 (рис. 4). Тобто для інтенсифікації процесу утворення водню необхідно досягти співвідношення за масою кількості мікроорганізмів до субстрату 1:4. За таких умов вихід водню досягає  $87,5 \pm 4,2 \%$ . Підвищення вмісту інокуляту (1:1) призводить до збільшення часу початку продукування водню та зниження його виходу. За таких умов збільшується кількість метаболітів, що інгібує розвиток клітин, та знижується значення рН суспензії. Також знижується надходження субстрату до мікроорганізмів, тобто відбувається конкуренція за субстрат між різними видами мікроорганізмів, що містяться в асоціації. Це призводить до зміни метаболічних шляхів у бік утворення продуктів, на біосинтез яких витрачається менше енергії.

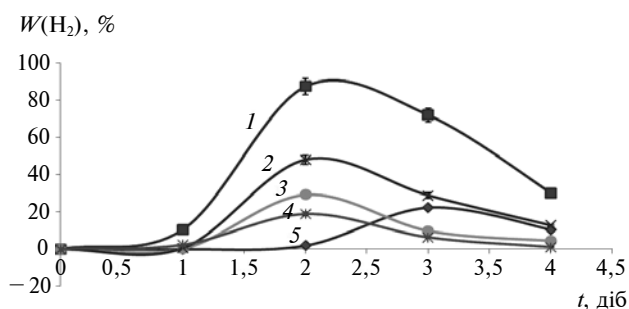


Рис. 4. Зміна виходу водню від часу культивування за різних співвідношень субстрату та інокуляту: 1 – 2:3; 2 – 1:2; 3 – 1:3; 4 – 1:6; 5 – 1:1. Асоціація збагачена мікроорганізмами родів *Clostridium* і *Bacillus*.

Таким чином, для підвищення виходу водню при утилізації відходів кукурудзи та соняш-

нику необхідно проводити попередню обробку сировини 20 %-ним розчином лугу, що дає змогу виділити лігнін із целюлозовмісної сировини і полегшити подальший гідроліз целюлози асоціацією мікроорганізмів. Також підвищенню виходу водню сприяє збагачення інокуляту мікроорганізмами родів *Clostridium* і *Bacillus* та проведення процесу ферментації за масового співвідношення інокуляту і сировини 1:4.

### Висновки

1. Найбільш ефективним методом попередньої обробки субстрату для процесу отримання водню при анаеробній ферментації відходів кукурудзи та соняшнику (1:1) є обробка 20 %-ним розчином NaOH протягом 3 год.

2. Максимальний вихід водню відбувається за значень рН 6–6,5. Зміна рН призводить до зміни метаболічних шляхів з ацетатного типу бродіння в бік утворення інших кислот, що спричиняє до зниження виходу водню.

3. Підвищення температури з  $22 \pm 2$  до  $35 \pm 2$  °C дає змогу збільшити вихід водню у 2 рази та скоротити час процесу ферментації.

4. Для інтенсифікації процесу продукування водню з відходів кукурудзи та соняшнику асоціацією мікроорганізмів, збагаченою мікроорганізмами родів *Clostridium* і *Bacillus*, раціональним є співвідношення інокуляту і субстрату 1:4, що дає можливість одержати біогаз із вмістом водню  $87,5 \pm 4,2 \%$ .

Для встановлення раціональних параметрів технологічного процесу подальші дослідження будуть проводитися на дослідній установці з постійним відведенням газової фази з метою практичної реалізації на промислових об'єктах.

### Список літератури

1. El-Sakhawy M., Ha M. Physical and mechanical properties of microcrystalline cellulose prepared from agricultural residues // Carbohydrate Polym. – 2007. – 22, № 67. – P. 1–10.
2. Pearson R., Turner J. Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation. – Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2014. – 863 p.
3. Effects of the pretreatment method on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentability of the cellulosic fraction from elephant grass / E. Cardona, J. Rios, J. Peca, L. Rios // Fuel. – 2014. – 118, № 17. – P. 41–47.
4. Asparagus stem as a new lignocellulosic biomass feedstock for anaerobic digestion: Increasing hydrolysis rate, methane production and biodegradability by alkaline pretreatment / C. Xiaohua, G. Yu, Z. Xuefei, Z. Yalei // Bioresour. Technol. – 2014. – 164, № 11. – P. 78–85.
5. The effect of alkaline pretreatment methods on cellulose structure and accessibility / B. Garima, M. Xianzhi, J. Deneff et al. // ChemSusChem. – 2015. – 8, № 2. – P. 275–279.
6. Thermophilic hydrogen production from sugarcane bagasse pretreated by steam explosion and alkaline delignification / R. Ratti, T. Delforno, I. Sakamoto, M. Amâncio Varesche // Int. J. Hydrogen Energy. – 2015. – 40, № 19. – P. 6296–6306.

7. Tamayo J., Migo V. Optimization of alkaline pretreatment of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake wood residue by Response Surface Methodology (RSM) for bioethanol production // *Asian Int. J. Life Sci.* – 2014. – **23**, № 2. – P. 641–663.
8. Jun K., Lee Y., Tae K. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass // *Bioresour. Technol.* – 2016. – **199**. – P. 42–48.
9. The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio on anaerobic digestion for a reliable methane yield / M. Kawai, N. Nagao, N. Tajima et al. // *Bioresour. Technol.* – 2014. – **157**, № 12. – P. 174–180.
10. Хроматограф лабораторный ЛХМ–8МД: техническое описание и инструкция по эксплуатации / Опытный завод “Хроматограф”. – М., 1992. – 50 с.
11. Yerushalmi L., Volesky B., Szczesny T. Effect of increased hydrogen partial pressure on the acetone-butanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum* // *Appl. Microbiol. Biotech.* – 1985. – **22**, № 2. – P. 103–107.
12. Amend J., Plyasunov A. Carbohydrates in thermophile metabolism: Calculation of the standard molal thermodynamic properties of aqueous pentoses and hexoses at elevated temperatures and pressures // *Geochim. Cosmochim.* – 2001. – **12**, № 3. – P. 3901–3917.
13. Fang H. Effect of pH on hydrogen production from glucose by mixed culture // *Bioresour. Technol.* – 2002. – **82**, № 14. – P. 87–93.
14. Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress / F. Hawkes, I. Hussy, G. Kyazze et al. // *Int. J. Hydrogen Energy.* – 2007. – **32**, № 2. – P. 172–184.
15. Kim S., Han S., Shin H. Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge // *Int. J. Hydrogen Energy.* – 2004. – **29**, № 15. – P. 1607–1616.
16. Pakarinen O., Lehtomaek A., Rintala J. Batch dark fermentative hydrogen production from grass silage: the effect of inoculum, pH, temperature and VS ratio // *Int. J. Hydrogen Energy.* – 2008. – **33**, № 2. – P. 594–601.

## References

1. M. El-Sakhawy and M. Ha, “Physical and mechanical properties of microcrystalline cellulose prepared from agricultural residues”, *Carbohydrate Polym.*, vol. 22, no. 67, pp. 1–10, 2007.
2. R. Pearson and J. Turner, *Advances in Biorefineries: Biomass and Waste Supply Chain Exploitation*. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited, 2014.
3. E. Cardona et al., “Effects of the pretreatment method on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentability of the cellulosic fraction from elephant grass”, *Fuel*, vol. 118, no. 17, pp. 41–47, 2014.
4. C. Xiaohua et al., “Asparagus stem as a new lignocellulosic biomass feedstock for anaerobic digestion: Increasing hydrolysis rate, methane production and biodegradability by alkaline pretreatment”, *Bioresour. Technol.*, vol. 164, no. 11, pp. 78–85, 2014.
5. B. Garima et al., “The effect of alkaline pretreatment methods on cellulose structure and accessibility”, *ChemSusChem*, vol. 8, no. 2, pp. 275–279, 2015.
6. R. Ratti et al., “Thermophilic hydrogen production from sugarcane bagasse pretreated by steam explosion and alkaline delignification”, *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 40, no. 19, pp. 6296–6306, 2015.
7. J. Tamayo and V. Migo, “Optimization of alkaline pretreatment of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake wood residue by Response Surface Methodology (RSM) for bioethanol production”, *Asian Int. J. Life Sci.*, vol. 23, no. 2, pp. 641–663.
8. K. Jun et al., “A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass”, *Bioresour. Technol.*, vol. 199, pp. 42–48, 2016.
9. M. Kawai et al., “The effect of the labile organic fraction in food waste and the substrate/inoculum ratio on anaerobic digestion for a reliable methane yield”, *Bioresour. Technol.*, vol. 157, no. 12, pp. 174–180, 2014.
10. *Laboratory Chromatograph LHM-8MD: Technical Description and Instructions on Operation*, Plant “Chromatograph”, Moscow, Russia, 1992 (in Russian).
11. L. Yerushalmi et al., “Effect of increased hydrogen partial pressure on the acetone-butanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum*”, *Appl. Microbiol. Biotech.*, vol. 22, no. 2, pp. 103–107, 1985.
12. J. Amend and A. Plyasunov, “Carbohydrates in thermophile metabolism: Calculation of the standard molal thermodynamic properties of aqueous pentoses and hexoses at elevated temperatures and pressures”, *Geochim. Cosmochim.*, vol. 12, no. 3, pp. 3901–3917, 2001.
13. H. Fang, “Effect of pH on hydrogen production from glucose by mixed culture”, *Bioresour. Technol.*, vol. 82, no. 14, pp. 87–93, 2002.
14. F. Hawkes et al., “Continuous dark fermentative hydrogen production by mesophilic microflora: principles and progress”, *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 32, no. 2, pp. 172–184, 2007.

15. S. Kim *et al.*, “Feasibility of biohydrogen production by anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge”, *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 29, no. 15, pp. 1607–1616, 2004.
16. O. Pakarinen *et al.*, “Batch dark fermentative hydrogen production from grass silage: the effect of inoculum, pH, temperature and VS ratio”, *Int. J. Hydrogen Energy*, vol. 33, no. 2, pp. 594–601, 2008.

Н.Б. Голуб, Д.І. Драпой

#### ПРОДУКУВАННЯ ВОДНЮ ПРИ АНАЕРОБНІЙ ФЕРМЕНТАЦІЇ ВІДХОДІВ КУКУРУДЗИ І СОНЯШНИКУ

**Проблематика.** Одержання водню – альтернативного енергоносія з відновлюваної сировини (сільськогосподарських відходів).

**Мета дослідження.** Встановлення раціональних параметрів попередньої лужної обробки відходів соняшнику та кукурудзи для підвищення швидкості продукування водню асоціацією мікроорганізмів.

**Методика реалізації.** Для дослідження якісного та кількісного складу біогазу, що утворюється в процесі ферментації, використовували метод газової хроматографії. Для визначення зон лізису та контролю видового складу асоціації мікроорганізмів використовували методи світлової мікроскопії.

**Результати дослідження.** Визначено вплив 5, 10, 20, 30, 40 %-ної концентрації луку при попередній обробці відходів кукурудзи та соняшнику на вихід водню в процесі анаеробної ферментації протягом 1, 2 і 3 год. Найвищий вихід водню спостерігається при обробці 20 %-ним розчином NaOH протягом 3 год. Досліджено вихід водню в процесі ферментації за об'ємного співвідношення інокуляту і культурального середовища ( $0,0267 \text{ г у } 1 \text{ см}^3$ ) 1:6; 1:3; 1:2; 2:3; 1:1. Вміст мікроорганізмів у суспензії інокуляту  $0,0011 \text{ г/см}^3$ . Показано, що за використання асоціації, яка збагачена мікроорганізмами родів *Clostridium* і *Bacillus*, вихід водню у газовій фазі досягає  $87,5 \pm 4,2 \%$  за умови співвідношення інокуляту і культурального середовища 2:3. Досліджено процес ферментації за двох температурних режимів:  $22 \pm 2$  і  $35 \pm 2$  °C. Показано, що підвищення температури з  $22 \pm 2$  до  $35 \pm 2$  °C дає змогу збільшити вихід водню у 2 рази. Показано, що найвищий вихід водню спостерігається при проведенні ферментативного процесу за значень pH 6–6,5. Зниження pH спричиняє зміну метаболічних шляхів з ацетатного типу бродиння в бік утворення бутирату, що призводить до зниження виходу водню.

**Висновки.** Найбільш ефективним методом попередньої обробки субстрату для процесу отримання водню при анаеробній ферментації відходів кукурудзи та соняшнику (1:1) є обробка 20 %-ним розчином NaOH протягом 3 год. Максимальний вихід водню спостерігається за співвідношення інокуляту і культурального середовища 2:3 за значень pH 6–6,5 і температури  $35 \pm 2$  °C.

**Ключові слова:** анаеробна ферментація; водень; відходи; мікроорганізми; інокулят; субстрат; целюлозовмісна сировина.

Н.Б. Голуб, Д.И. Драпой

#### ПОЛУЧЕНИЕ ВОДОРОДА ПРИ АНАЭРОБНОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ ОТХОДОВ КУКУРУЗЫ И ПОДСОЛНУХА

**Проблематика.** Получение водорода – альтернативного энергоносителя из возобновляемого сырья (сельскохозяйственных отходов).

**Цель исследования.** Установление рациональных параметров предварительной щелочной обработки отходов подсолнуха и кукурузы для повышения скорости продуцирования водорода ассоциацией микроорганизмов.

**Методика реализации.** Для определения качественного и количественного состава биогаза, который образуется в процессе ферментации, использовали метод газовой хроматографии. Для определения зон лизиса и контроля видового состава ассоциации микроорганизмов использовали методы световой микроскопии.

**Результаты исследования.** Определено влияние 5, 10, 20, 30, 40 %-ной концентрации щелочи при предварительной обработке отходов кукурузы и подсолнуха на выход водорода в процессе анаэробной ферментации в течение 1, 2 и 3 ч. Максимальный выход водорода наблюдается при обработке 20 %-ным раствором NaOH в течение 3 ч. Исследован выход водорода в процессе ферментации при соотношении по объему инокулята и культуральной среды ( $0,0267 \text{ г в } 1 \text{ см}^3$ ) 1:6; 1:3; 1:2; 2:3; 1:1. Содержание микроорганизмов в суспензии инокулята  $0,0011 \text{ г/см}^3$ . Показано, что при использовании ассоциации, обогащенной микроорганизмами родов *Clostridium* и *Bacillus*, выход водорода в газовой фазе достигает  $87,5 \pm 4,2 \%$  при соотношении инокулята и культуральной среды 2:3. Исследован процесс ферментации при двух температурных режимах:  $22 \pm 2$  и  $35 \pm 2$  °C. Показано, что повышение температуры с  $22 \pm 2$  до  $35 \pm 2$  °C позволяет увеличить выход водорода в 2 раза. Показано, что максимальный выход водорода наблюдается при проведении ферментативного процесса при pH 6–6,5. Снижение pH вызывает изменение метаболических путей с ацетатного типа брожения в сторону образования бутирата, что приводит к снижению выхода водорода.

**Выводы.** Наиболее эффективным методом предварительной обработки субстрата для процесса получения водорода при анаэробной ферментации отходов кукурузы и подсолнуха (1:1) является обработка 20 %-ным раствором NaOH в течение 3 ч. Максимальный выход водорода наблюдается при соотношении инокулята и культуральной среды 2:3 при значениях pH 6–6,5 и температуре  $35 \pm 2$  °C.

**Ключевые слова:** анаэробная ферментация; водород; отходы; микроорганизмы; инокулят; субстрат; целлюлозосодержащее сырье.

Рекомендована Радою  
факультету біотехнології і біотехніки  
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції  
18 грудня 2015 року